



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Mechanism of gastric mucosal damage induced by ammonia—Impairment of energy metabolism due to ammonia —                                         |
| Author(s)    | 辻井, 正彦                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1992, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38012">https://hdl.handle.net/11094/38012</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|            |                                                                                                                                                                              |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名        | 辻 井 正 彦                                                                                                                                                                      |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 ( 医 学 )                                                                                                                                                                  |
| 学位記番号      | 第 1 0 1 8 7 号                                                                                                                                                                |
| 学位授与年月日    | 平成 4 年 3 月 25 日                                                                                                                                                              |
| 学位授与の要件    | 学位規則第 4 条第 1 項該当                                                                                                                                                             |
| 学位論文名      | 医学研究科 内科系専攻<br><b>Mechanism of gastric mucosal damage induced by ammonia<br/>— Impairment of energy metabolism due to ammonia —</b><br>(アンモニアによる胃粘膜障害機序—アンモニアによるエネルギー代謝の障害—) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教 授 鎌田 武信<br>(副査)<br>教 授 田川 邦夫    教 授 森    武貞                                                                                                                        |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### (背 景)

1983年に Marshall らがヒト胃粘膜にグラム陰性螺旋状菌 (*Helicobacter pylori* (HP)) を検出して以来、本菌とは種々の胃十二指腸粘膜病変との関連が注目されている。HP は強い urease 活性を有し胃粘膜表層でアンモニアを産生しており、HP 陽性者胃液中のアンモニア濃度は0.015%と陰性者のそれ(<0.005%) に比して有意に高いと報告されている。

### (目 的)

アンモニアの胃粘膜に対する障害性、粘膜血行動態・分離粘膜表層細胞及び分離ミトコンドリアの酸素呼吸・胃粘膜のエネルギー代謝に及ぼす影響を検討する。

### (方 法)

- 1) 胃粘膜に対する障害性: 24時間絶食後、胃内にアンモニア溶液 (0, 125, 187.5, 250mM) を 2 ml 投与した。30分後、腺胃部分に対し粘膜病変部が占める面積比を求め、ulcer index とした。250mM アンモニア溶液と同じpH (10.3) の250 mM glycine-NaOH 溶液を投与し、胃粘膜のアルカリ性溶液に対する影響を検討した。塩化アンモニウム溶液 (pka = 9.5) 中、細胞膜透過性の脱イオン型アンモニア ( $\text{NH}_3$ ) の濃度は pH 依存性である。種々の pH (4.5, 7.4, 9.8) の250 mM 塩化アンモニウム溶液を投与し、 $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_3$  の胃粘膜に対する影響を検討した。
- 2) 胃粘膜血行動態に対する影響: ラット24時間絶食後、250 mM アンモニア溶液を胃腔内に投与し、5 分毎に30分間腺胃粘膜より粘膜血液量指数・粘膜酸素飽和度を臓器反射スペクトル法を用いて求めた。

- 3) 分離胃粘膜表層細胞の viability 及び、酸素消費に対する影響：ラットの胃粘膜より表層細胞を分離し、2時間培養後、アンモニア（0, 1, 5, 10 mM）を含む培養液中で30分培養し、トリパンブルーにて細胞の viability を検討した。また、 $\alpha$ -ケトグルタル酸を基質に用い、種々の濃度のアンモニア存在下での酸素消費を測定した。
- 4) 胃粘膜表層細胞の分離ミトコンドリア酸素消費への影響：家兎の胃の剥離した表層粘膜よりミトコンドリアを抽出し、アンモニア存在下（0, 0.01, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 mM）での酸素消費を $\alpha$ -ケトグルタル酸を基質にして検討した。
- 5) 胃粘膜のエネルギー代謝に対する影響：48時間絶食し、250 mM アンモニア溶液 2 ml を胃腔内に投与した。10分, 30分後に粘膜表層を剥離し、直ちに液体窒素中で凍結し、adenine nucleotide 量を HPLC で測定した。
- 6) アンモニア慢性投与ラット胃粘膜に対する影響：0.01%（7 mM）アンモニア溶液を飲料水として8週間ラットに与え、粘膜細胞構築に与える影響を検討した。

（成 績）

- 1) 胃粘膜に対する障害性：187.5 mM 以上のアンモニア濃度で濃度依存性に急性胃粘膜病変が生じた。250 mM の glycine-NaOH では明かな粘膜病変は生じなかった。250 mM 塩化アンモニウムの場合、pH 4.5, 7.4 では粘膜病変は生じなかったが、pH 9.8では ulcer index はコントロール群に比し、有意に高かった。
- 2) 胃粘膜血行動態に対する影響：アンモニア投与後粘膜血液量指数・粘膜酸素飽和度に有意な変化はなかった。
- 3) 分離胃粘膜表層細胞の viability 及び、酸素消費に対する影響：分離胃粘膜表層細胞の viability, 細胞呼吸ともにアンモニア濃度が 5 mM 以上で有意に抑制された。
- 4) 胃粘膜表層細胞の分離ミトコンドリア酸素消費への影響：state 4, 3 の酸素消費は各々, 1, 0.1 mM 以上のアンモニア存在下で respiratory control は 0.01 mM 以上のアンモニア存在下で有意に抑制された。
- 5) 胃粘膜のエネルギー代謝に対する影響：アンモニア投与10分後には ulcer index の有意な変化はみられず、30分後に有意に増加した。胃粘膜表層の ATP 量, energy charge は10分後より有意に減少した。
- 6) アンモニア慢性投与ラット胃粘膜に対する影響：2週間目より腺境界は口側へ移行した。4週間目より前庭部粘膜厚・壁細胞数は減少した。

（総 括）

胃腔内アンモニアは濃度依存性に急性胃粘膜病変を惹起した。同 pH のアルカリ溶液では明かな粘膜病変は生じず、粘膜病変惹起には、アンモニアそのもの、細胞膜透過性の脱イオン型のアンモニア（ $\text{NH}_3$ ）が関与していることが示唆された。アンモニアによる粘膜病変発生には粘膜の微小循環障害は関与せず、アンモニアが胃粘膜表層細胞に対し、そのミトコンドリア酸素呼吸を抑制し、細胞内エネルギー代謝を障害することにより細胞障害性に作用する機序が示唆された。アンモニアの慢性投与によりヒト

慢性萎縮性胃炎に似た組織像が得られた。

### 論文審査の結果の要旨

*Helicobacter pylori* 感染と種々の胃十二指腸粘膜病変との関連が注目されているが、粘膜病変の発生機序の詳細は不明である。本菌は強い urease 活性を有しており、胃腔内でアンモニアを産生する。本論文は *Helicobacter pylori* 陽性者の胃液中に存在すると同濃度のアンモニアがラット胃粘膜細胞に対し、ミトコンドリアの呼吸阻害を惹起し、細胞内エネルギー代謝に影響を与えることにより細胞障害に働くことを明らかにし、アンモニアの長期投与によりヒト B 型慢性萎縮性胃炎と酷似した粘膜変化が惹起されることを示した。これらの成績は、*Helicobacter pylori* 感染による種々の胃疾患の病態にアンモニアが関与していることを示唆したものであり、その意義は極めて大きく学位論文に値するものである。